(Aus dem zoologischen Institut der Universität Leipzig.)

Studien
über
Temperaturwirkungen auf Daphnia magna, mit besonderer Berücksichtigung der Anpassungserscheinungen.

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
einer
Hohen Philosophischen Fakultät der
Universität Leipzig
vorgelegt
von

Nikolai von Transehe
aus Wrangelshof (Livland).

Bonn 1913.
Verlag von Martin Hager.

Angenommen von der dritten Sektion auf Grund der Gutachten der Herren Chun und Pfeffer.

Leipzig, den 27. Mai 1913.

Der Procancellar
Le Blanc.

Studien über Temperaturwirkungen auf Daphnia magna, mit besonderer Berücksichtigung der Anpassungserscheinungen.

(Mit 4 Textfiguren.)

Inhaltsübersicht.

I. Einleitung.

Die Temperatur ist unzweifelhaft einer der wichtigsten physikochemischen Faktoren aller Lebensvorgänge. Sie spielt z. B. in mehrfacher Hinsicht eine noch wichtigere Rolle, speziell in biologischer (ökologischer) Beziehung, als der Salzgehalt des inneren und äusseren Mediums.

Denn Variationen der Temperatur treten in der Natur offenbar viel häufiger und in viel grösserem Umfange auf als Variationen des Salzgehaltes. Man kann also von vornhein eine besonders grosse Mannigfaltigkeit von biologischen Reaktionen auf Temperaturänderungen hin erwarten.

Es ist selbstverständlich, dass die Wirkungen der Temperatur auf biologische Prozesse schon in ausserordentlich vielen Beziehungen untersucht worden sind. Beschränken wir uns auf biologische resp. ökologische Probleme in engerem Sinne — sehen wir also ab von dem Studium über die Wirkungen der Temperatur auf spezielle organphysiologische Prozesse —, so ergibt sich vielleicht als das allgemeinste Problem die Frage nach den Maximaltemperaturen, d. h. der obersten und untersten Temperaturgrenze', bei welchen Organismen noch funktionsfähig bleiben. Es umschliesst dieses Problem gleichsam den Rahmen, innerhalb dessen andere biologische Temperatureinflüsse, z. B. solche auf Wachstum, Geschlechtsreife, Gestaltung usw. sich abspielen können. Im engsten Zusammenhang mit dieser allgemeinsten Rolle der Temperatur steht die Frage nach der Verschiebbarkeit dieser Temperaturgrenzen, d. h. die Frage nach dem Anpassungsvermögen der Organismen an Temperaturen, die bei plötzlicher Anwendung den Tod veranlassen.

Das erste Problem, die Frage nach den extremen Temperaturen, welche Organismen ohne Einbusse ihrer Lebensfähigkeit auszuhalten vermögen, ist bekanntlich ausserordentlich häufig behandelt worden. Schon von Spallanzani sind im Jahre 1777 Untersuchungen über die Maximaltemperaturen angestellt worden, welche Essigälchen, Blutegel, Fliegenlarven, Salamander und Frösche aushalten konnten. Seitdem sind an einer grossen Anzahl weiterer Organismen analoge Versuche angestellt worden. Die ältere Literatur findet sich fast vollständig gesammelt in der Abhandlung von Davenport and Castle (1896), On the acclimatization . . . p. 247, und in der Vergleichenden chemischen Physiologie von O. v. Fürth (1903, S. 433). Nachstehende Anmerkung 1 ist eine Fortführung und Vervollständigung der Davenport-Fürth'schen Literatursammlung bis zur Gegenwart. In diese Liste[1]) sind nicht aufgenommen worden

1) W. F. Edwards (1824), De influence des l'agens physique sur la vie. Paris. — Doyère (1842), Memoire sur les Fardigrades. Ann. des sciences nat. t. 18. — H. Nicolet (1842), Recherches pour servir à l'histoire des Podurelles. Schweizer Gesellsch. N. Denkmäler Bd. 6. — W. Kühne (1859), Über die ge-

die Arbeiten über die maximalen Temperaturgrenzen von pflanzlichen Organismen sowie von pathologischen Bakterien usw.

---

rinnbare Substanz der Muskeln. Monatsber. der Akad. zu Berlin 1860. — P. Broca (1861), Rapport sur la question au sujet de la reviviscence des animaux desséchés. Mém. de la Soc. de Biol. t. 3 p. 61. — J. Davy (1863), Some observations on the vitality of fishes . . . Rept. 32 d. mut. Brit. Assoc. Adv. Sci. — M. Schultze (1863), Das Protoplasma der Rhizopoden und der Pflanzenzellen. Leipzig, Engelmann. — Obernier (1866), Versuch über den Einfluss hoher Wärmegrade an Tieren. Verhandl. des naturhist. Ver. d. preuss. Rheinl. Bd. 23. — P. Bert (1867), Sur la mort des animaux à sang froid par l'action de la chaleur. Mém. de la Soc. des Sci. Bordeaux t. 5 p. XXII (Einleitung). — J. Wyman (1867), Observations and experiments on living Organisms in heatet vater. Americ. Journ. Sci. vol. 44. — F. Plateau (1872), Recherches physico-chimiques sur les articules aquatiques II . . . Bull. de l'Acad. roy. Belg. t. 34. — F. Hoppe-Seyler (1875), Über die obere Temperaturgrenze des Lebens. Pflüger's Arch. Bd. 11. — P. Bert (1876), Sur l'influence de la chaleur sur les animaux inferieurs. Compt. rend. Soc. Biol. t. 28. — A. Weismann (1876—79), Beiträge zur Naturgeschichte der Daphnoiden. Leipzig. — Semper (1880), Die natürlichen Existenzbedingungen der Tiere. Leipzig. — W. H. Dallinger (1880), On a series of experiments made to determine ther thermal . . . Journ. Roy. Micr. Soc. vol. 3. — J. Frenzel (1885), Temperaturmaxima für Seetiere. Pflüger's Arch. Bd. 36. — V. Graber (1885), Termische Experimente an der Küchenschabe (Periplaneta orientalis). Pflüger's Arch. Bd. 41. — H. de Varigny (1887), Note sur l'action de l'eau douce, de la chaleur et de quelques poisons sur le Beroë ovatus. Compt. rend. Soc. Biol. t. 39. — E. Young (1888), Contributions à l'histoire physiologique de l'exargot. Mém. couronnés de l'Acad. roy. de Bruxelles t. 49. — Schürmeyer (1890), Über den Einfluss äusserer Agentien auf einzellige Wesen. Jenaische Zeitschr. f. Naturwiss. Bd. 24, N. F. Bd. 17. — H. de Varigny (1893), Les temperatures extrèmes, dans la vie des espèces animales et végetales. Revue scientif. t. 51. — G. Lindner (1896), Studien über die Biologie parasitischer Vorticellen. Biol. Zentralbl. Bd. 16. — Davenport and Castle (1896), On the acclimatization of organisms to high temperatures. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 2. — H. A. Vernon (1899), Heat rigor in cold-bloodet animals. Journ. of Physiol. vol. 24 and 25. — Bachmetjew (1899), Über die Temperatur der Insekten. Zeitschr. f. wissensch. Zool. Bd. 66. — O. v. Fürth (1900), Über die Eiweisskörper der Kaltblütermuskeln und ihre Beziehung zur Wärmestarre. Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 31. — E. Warren (1900), Untersuchungen über die kombinierte Wirkung von NaCl u. Temperatur. Quaterly Journ. of microscop. science, New. p. 43. — O. v. Fürth (1903), Vgl. chemische Physiologie der niederen Tiere. Jena. — Ferd. Kryž (1907), Unabhängigkeit der Koagulationspunkte spezifischer Muskelplasmen von der Temperatur während des Lebens. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 23. — A. Dernoscheck (1911), Studien über die Giftigkeit von Seewasser für Süsswassertiere . . . Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 143. Bonn. — J. Loeb and H. Wasteneys (1912), On the adaption of fish (Fundulus) to higher Temperatures. Journ. of Exper. Zool. vol. 12 no. 4.

Auf einzelne wichtige Arbeiten, die in engerem Zusammenhang mit den vorliegenden Untersuchungen stehen, wird gelegentlich noch näher eingegangen werden. Anhangsweise sei noch auf einige Untersuchungen hingewiesen, welche den gemeinschaftlichen Einfluss von Temperatur- und Salzwirkungen behandeln; die wichtigsten, speziell für die vorliegenden Untersuchungen in Frage kommenden Arbeiten sind die von Davenport (1896), Warren (1900) und A. Dernoscheck (1911).

Nicht so zahlreich sind die Arbeiten, welche sich eingehender mit dem zweiten Fundamentalproblem, mit der Frage nach der Verschiebbarkeit der biologischen Temperaturgrenzen, d. h. mit den Anpassungsvorgängen beschäftigen. Die wichtigsten von diesen Arbeiten sind die von Weismann (1876—79), Davenport (1896) und Loeb (1912); es sei erlaubt zu bemerken, dass die letztgenannte Arbeit erst erschien, nachdem der grösste Teil der hier zu beschreibenden Versuche bereits abgeschlossen war.

Trotz der Fülle des experimentellen Materials, das die angeführten Arbeiten enthalten, lässt sich aus ihnen nur ein verhältnismässig kleines Quantum von allgemeinen Beziehungen oder Gesetzmässigkeiten entnehmen. In der Regel sind die Versuchsbedingungen sehr wenig gut definiert oder doch nicht genügend eingehend beschrieben; es fehlen sehr häufig Kontrollversuche, und z. B. die wichtige Frage nach der Reproduzierbarkeit der Versuchsergebnisse wird fast nie erörtert oder geprüft. In vielen Fällen kann man den Arbeiten nicht einmal mit Genauigkeit entnehmen, ob der Temperaturwechsel z. B. durch Übertragen der Versuchstiere in das anders temperierte Medium stattgefunden hat oder aber durch Erhitzen (oder Abkühlen) der ursprünglichen Temperatur; die Geschwindigkeit der Temperatursteigerung (oder Temperaturerniedrigung) wird in letzteren Fällen vielfach nicht angegeben resp. variiert in unkontrollierbarer Weise usw. Es fehlt, mit anderen Worten, noch weitgehend sowohl an systematischen als auch an quantitativen Versuchen unter möglichst scharf definierten Versuchsbedingungen, und zwar sowohl über das Problem der Temperaturgrenze als auch über dasjenige der Anpassung an anomale Temperaturen.

In folgendem ist nun versucht worden, an einem leicht in grösseren Mengen zu beschaffenden und relativ gleichmässig physiologischen Material die genannten zwei elementaren Wirkungen der

Temperatur in systematischer und quantitativer Weise näher zu studieren. Es ist offenkundig, dass zukünftig weitere physikochemische Analysen sich mit Erfolg nur auf derartig möglichst quantitatives Material aufbauen können. Es liegen hier ganz analoge Verhältnisse vor wie bei den Wirkungen der Salze auf tierische Organismen. In der Tat kann die vorliegende Arbeit als eine Parallelarbeit zu der kürzlich erschienenen und bereits zitierten von A. Dernoscheck: Studien über die Giftigkeit von Seewasser für Süsswassertiere mit besonderer Berücksichtigung der Anpassungserscheinungen, aufgefasst werden.

II. Methodik.

Als Versuchsmaterial wurde Daphnia magna aus der Umgebung von Leipzig verwendet, dasselbe Material, an dem auch A. Dernoscheck seine Versuche angestellt hatte. Die Tiere wurden stets in denselben grösseren Aquarien bei Zimmertemperatur gehalten (abgesehen natürlich von den später zu beschreibenden Anpassungsversuchen). Die Aquarien waren in üblicher Weise mit Sand, Wasserpflanzen usw. ausgestattet. Abgesehen von den speziellen Fütterungsversuchen (s. Abschnitt V), wurde den Daphnien ausser den normalerweise in derartigen Aquarien vorhandenen Nährsubstanzen nichts geboten.

Für den ersten Teil der Untersuchungen: die möglichst quantitative Bestimmung der oberen Temperaturgrenzen der Daphnien, wurde folgende Versuchsanordnung gewählt. Zunächst wurden die Versuchstiere plötzlich in Wasser von der Untersuchungstemperatur gebracht. Dies geschah derart, dass die gewünschte Anzahl der Versuchstiere in ein kleines Gläschen hineinpipettiert, das mit hineingebrachte Wasser abpipettiert und darauf — möglichst schnell — die Tiere mit dem erwärmten Versuchsmedium in das Versuchsgefäss gespült wurden. Es wurde stets dieselbe Anzahl von Tieren für eine zusammenhängende Versuchsreihe genommen, in der Regel 25. Die Wichtigkeit der Maassregel, stets eine gleiche Anzahl von Tieren zu benutzen, geht bereits aus der Untersuchung über die Giftwirkung von Salzen hervor (s. A. Dernoscheck l. c. sowie weiter unter Abschnitt IV). Als Versuchsflüssigkeit wurde nicht Aquarienwasser verwendet, wie es vielleicht nahe läge, sondern Leitungswasser. Es geschah dies aus dem Grunde, weil Aquarienwasser zweifellos von viel variablerer Zusammensetzung und Beschaffenheit ist als Leitungswasser. Irgendwelche giftige Effekte des Leitungswassers sind nicht,

zum mindesten nicht in den in Frage kommenden Versuchszeiten, bemerkt worden.

Als apparative Versuchsordnung wurde nach verschiedentlichem Ausprobieren folgende gewählt. Ein mit Filz dick umwickelter Emailletopf (*a*) von zylindrischer Form, etwa 25 cm hoch und 30 cm im Durchmesser, stand auf einem Dreifuss über einer beliebig regulierbaren Gasflamme. Dieser Topf war mit Wasser gefüllt, dessen Temperatur der Höhe entsprach, welche für das zu machende Experimeut gewünscht wurde. In dieses Wasser wurde auf einer Brücke (*b*) das Versuchsgefäss (*c*) gestellt. Dieses Versuchsgefäss war aus Glas und hatte zylindrische Form mit ca. 8 cm Durchmesser. In dieses mit frischem Leitungswasser der gewünschten Temperatur gefüllte Glas wurden die zum Versuch bestimmten Tiere getan. Bei allen Versuchen (ausser den Volumenexperimenten, s. Abschnitt IV) betrug die Wassermenge im Versuchsglas 200 ccm. Der Wasserspiegel des grossen Topfes war höher gelegen als der im Versuchsglase. Die Erfahrung lehrte, dass das Wasser im grossen Topf um 1—2 ° wärmer sein musste als im Versuchsglase, wodurch die Temperatur in letzterem auffallend konstant blieb. Die Temperatur des Wassers im grossen Topf wurde teils durch Hinzugiessen von kaltem Wasser, teils durch Verstärken der Gasflamme auf gewünschter Höhe gehalten. Es wurde immer vermieden, das Wasser, welches in das Versuchsglas getan wurde, vorher viel über die gewünschte Temperatur zu erhitzen; vor allem wurde zu den Experimenten nie Wasser verwandt, welches beim vorherigen Aufwärmen den Siedepunkt überschritten hatte. In den Topf (*a*) hing beständig ein Thermometer hinab, während ein zweites Thermometer dazu benutzt wurde, die Temperatur im Versuchsglase zu kontrollieren. Der ganze Apparat war in einer Höhe angebracht, bei der man, über ihn gebeugt, bequem in das Versuchsglas hineinblicken konnte.

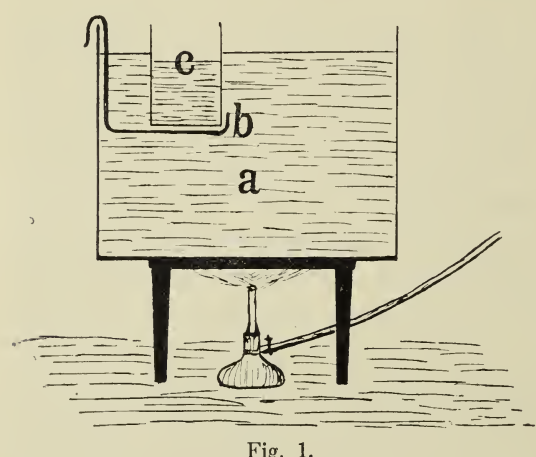


Fig. 1.

Der Boden des Versuchsglases war dunkel, so dass sich die Daphniden gut abheben konnten (s. Fig. 1).

Bei den Versuchen zur Bestimmung der oberen Temperaturgrenzen wurde kein Thermoregulator verwendet, da einerseits die verwandten Versuchszeiten verhältnismässig kurze waren, andererseits aber während dieser Zeit mit Hilfe der beschriebenen Einrichtung die Temperatur im Versuchsglase nie eine grössere Variation zeigte als 0,5 ° C. Eine grössere Genauigkeit anzustreben wäre unangemessen gewesen in Hinsicht auf die sehr viel grösseren Fehler, welche in der physiologischen Verschiedenheit des Versuchsmaterials liegen. Für Gleichmässigkeit der Temperatur in den verschiedenen Schichten des Versuchsgefässes wurde durch vorsichtiges aber andauerndes Rühren mit einer Versuchsnadel gesorgt. Dies Verfahren erschien namentlich bei den höheren Temperaturen (und kürzeren Lebenszeiten) nötig; siehe weiter unten.

Bei den Anpassungsversuchen wurden die Tiere dagegen in einem Aquarium gehalten, welches in ein mit einem Thermoregulator versehenes und mit Gas erwärmtes grösseres Gefäss gesetzt wurde.

Die Bestimmung zunächst der oberen Temperaturgrenzen geschah auf folgende Weise: als Kriterium des Absterbens wurde das Aufhören jeder spontanen Bewegung der Antennen usw. gewählt. Obgleich dies Kriterium auf den ersten Augenblick sehr subjektiv und infolgedessen stark variabel erscheint, gelingt es nach längerer Übung durchaus, innerhalb der Fehlergrenzen übereinstimmende Resultate zu erhalten. Nach Feststellung von einigen Hunderten derartiger Absterbeprozesse ist der Beobachter in der Tat nicht mehr im Zweifel, ob der als Kriterium gewählte Zustand eingetreten ist oder nicht. Sodann wurden zweierlei Verfahren eingeschlagen. Entweder wurden nach bestimmten regelmässigen Zeitintervallen, z. B. nach je 5 Minuten, die toten Tiere herauspipettiert und ihre Zahl angeschrieben, bis sämtliche Tiere abgestorben waren. Dies Verfahren — Modus I — erfordert eine speziell grosse Anzahl von Versuchstieren. So sind für die zum grössten Teil mit diesem Verfahren ausgemessene, weiter unten zu beschreibende „Normalkurve“ 3895 Individuen gebraucht worden. Oder aber — Modus II —, es wurde nach dem Instandsetzen des Versuches ununterbrochen das Versuchsgefäss beobachtet, jedes tote Tier sofort herausgenommen, seine Lebensdauer notiert und in der Weise fortgefahren, bis der Versuch mit dem Tode des letzten Tieres beendet war. Letzteres

Verfahren war für höhere Temperaturen besonders praktisch. Natürlich wurden aus diesen Einzelbestimmungen Mittelwerte gewonnen, solche von verschiedenen Versuchen eventuell miteinander vereinigt usw. (Modus I ist zur Feststellung der Werte für die Normalkurve von 35° bis inkl. 39° benutzt worden; bei allen übrigen Versuchen wurde aus den oben beschriebenen Gründen Modus II angewendet). Im folgenden sind zur Demonstration dieser zwei Versuchsmethoden zwei Beispiele von Versuchsprotokollen wiedergegeben worden:

Beispiel für Versuchsmodus I.

Testtemperatur 37°; 25 Daphniden für den Einzelversuch.

	Minuten									
	5	10	15	20	25	30	35	40	45	50
1.	1	2	3	3	**5**	5	3	3	—	—
2.	2	4	2	4	**6**	4	2	1	—	—
3.	—	—	1	2	**8**	5	3	4	2	—
4.	2	4	6	4 ×	6	1	2	—	—	—
5.	5	3	2	3 ×	3	6	2	1	—	—
6.	1	3	1	—	2	**6**	4	3	3	2
7.	4	4	2	2	**4**	2	5	2	—	—
8.	9	4	4 ×	4	1	1	1	1	—	—
—					usw.					
34.	—	—	2	1	5 ×	7	3	3	4	—
35.	1	2	3	3	**5**	5	2	2	2	—
Mittelwerte	2,09	1,97	2,69	3,08	**6,06**	3,91	2,71	1,74	0,66	0,11

2,09 × 5 = 10,45
1,97 × 10 = 19,7
2,65 × 15 = 40,35
. . . . . . = ...
. . . . . . = ...
. . . . . . = ...
+ 602,15

602,15 | 25 | **24,08**

Beispiel für Modus II.

Von 75 Daphniden starben bei 40°:

1	Daphnia nach	1 Min.
16	Daphniden nach	2 „
18	„ „	3 „
26	„ „	4 „
12	„ „	5 „
2	„ „	6 „
75	Daphniden nach	263 Min.

263 | 75 | 3,5

In Anbetracht der bekannt grossen Fehlergrenzen biologischer Versuche wurde nicht mit dem Material gespart; es sind für die Resultate der vorliegenden Arbeit 7908 Ablesungen gemacht worden („Normalkurve" — 3895; „Fütterung" — 300; „Anpassung" — 2663; „Volumen" — 790; Misserfolge, verdorbene Versuche — 260).

Über die spezielle Methodik der Anpassungsversuche wird in Abschnitt VI näher eingegangen werden.

III. Feststellung der Normalkurve.

Es ist aus den verschiedenartigen Untersuchungen über den Temperaturtod von Organismen hinlänglich bekannt, dass das Absterben nicht mit einer bestimmten kritischen Temperatur momentan stattfindet, sondern dass in einem deletären Temperaturbereich die Lebensdauer in gleichem Sinne abnimmt, in dem die Temperatur innerhalb dieses Gebietes steigt. Es gibt, mit anderen Worten, nicht einen tödlichen Temperaturpunkt, sondern vielmehr ein tödliches Temperaturgebiet. Diese Tatsache — das Vorhandensein eines deletären Temperaturgebietes, nicht nur einer einzigen deletären Temperatur — ist in den meisten der bisherigen Arbeiten nur unvollkommen berücksichtigt worden. In der Regel findet man nur Angaben einer Temperatur und einer Lebenszeit statt einer Serie zusammengehöriger Temperaturen und Lebenszeiten. Es ist aber einleuchtend, dass z. B. für jede weitere physiologische oder physiologisch-chemische Analyse des Wärmetodes nicht ein einziges Paar von Beobachtungen zureichend sein kann, sondern dass nur eine ganze Beobachtungsserie resp. -kurve die betreffende „Funktion" darstellen kann.

Das Hauptaugenmerk bei der quantitativen Feststellung der Beziehungen zwischen Temperaturhöhe und Lebenszeit musste naturgemäss auf möglichste Konstanthaltung aller Versuchsbedingungen gerichtet werden. So wurden, abgesehen vom konstanten Wasservolumen usw., mit ganz wenigen, jedesmal angegebenen Ausnahmen immer 25 Tiere gleichzeitig verwendet. Es wurde auch darauf geachtet, möglichst normale, kräftige und frische Individuen zu nehmen, insbesondere aber solche hier auszuschalten, die z. B. durch abnorme Fütterung, abnorme vorhergegangene Temperaturschwankung usw. beeinflusst sein konnten. Im übrigen habe ich den unvermeidlichen individuellen Verschiedenheiten durch eine tunlichst grosse Anzahl von Versuchen Rechnung zu tragen gesucht, ebenso durch die ent-

sprechende Aufstellung von **Mittelwerten**. Nachfolgende Tabelle 1 und Kurve (Fig. 2) stellen das Mittel von 3895 Einzelbeobachtungen dar.

Tabelle 1 zur „Normalkurve".

Temperatur ° C.	Mittlere Lebensdauer Min.	Anzahl der Versuche	Anzahl der Tiere	Modus	Jahreszeit
35,0	27,8	35	875	I	Mai
37,0	24,08	35	875	I	„
38,0	17,3	35	875	I	Juni
39,0	8,6	35	875	I	„
39,5	5,5	1	75	II	„
40,0	3,5	1	75	II	Juli
40,5	1,7	1	75	II	„
41,0	1,1	1	75	II	„

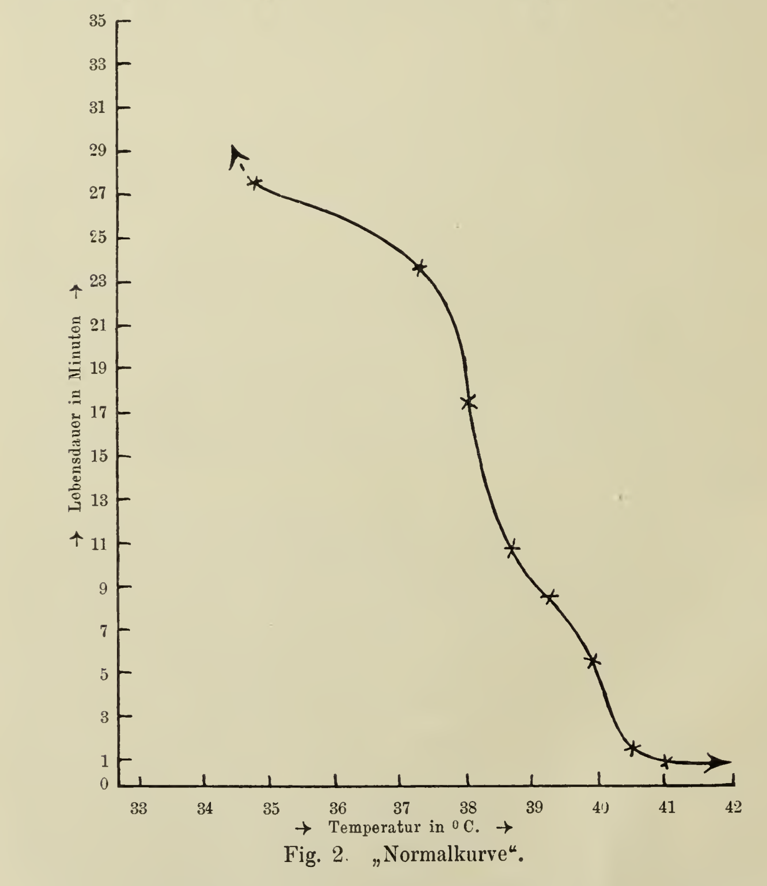


Fig. 2. „Normalkurve".

Das untersuchte Temperaturgebiet wurde nach unten mit 35°, nach oben mit 41° abgegrenzt. Wenig unterhalb 35° betrug die

Lebensdauer schon mehr als eine Stunde (bei 30° hielten sich die Tiere schon tagelang), so dass hier die Genauigkeit der Messungen erheblich abnahm. In analoger Weise betrug die Abnahme der Lebenszeit bei Temperaturen über 41° usw. nur Bruchteile von Minuten, so dass sich hier ebenfalls die Versuchsfehler zu gross ergaben. Die Schwierigkeit, so ausserordentlich kleine Differenzen der Lebenszeit bei den höchsten Temperaturen festzustellen, zwang auch zur Anwendung des oben (S. 9) beschriebenen zweiten Versuchsmodus in diesem Gebiet. Bis einschliesslich 39° wurde der erste Versuchsmodus (Feststellung der Zahl der gestorbenen Tiere nach bestimmten Zeitintervallen), bei Temperaturen über 39° der zweite Versuchsmodus (individuelle Feststellung der Lebenszeit) angewendet. Wie aus Tabelle 1 und Figur 2 ersichtlich, liegt also das kritische Temperaturgebiet für Daphnia magna zwischen 35° und 41°.

Die Tabelle und insbesondere die Kurve zeigen, dass die Versuchsbedingungen genügend konstant und ebenfalls die Anzahl der Messungen genügend gross waren, um das Gesetzmässige zwischen Temperatur und Lebenszeit innerhalb des kritischen Gebietes zum Vorschein kommen zu lassen. Die Kurve zeigt eine durchaus regelmässige S-förmige Gestalt. Kurz vor 35° beginnt die Lebenszeit von praktisch unendlich abnorm schnell zu fallen. Nebenbei bemerkt, entspricht dies Verhalten durchaus dem von J. Loeb, Wo. Ostwald und A. Dernoscheck beobachteten Verhalten von Süsswasserorganismen gegen die schrittweise Erhöhung des Salzgehaltes, resp. bei der schrittweisen Verdünnung des Seewassers bei Seewassertieren (s. A. Dernoscheck, l. c.). Es erfolgt dann ein steiler Abfall der Lebenszeit von ca. 1/2 Stunde (bei 35°) innerhalb 4° (39°) bis auf 8,6 Min. und dann eine sehr allmähliche, aber relativ unbedeutende Abnahme bei weiterer Temperaturerhöhung. Bei Temperaturen über 40° variiert die Lebenszeit nur noch wenig. Bei 40,5° beträgt sie 1,7 Min., bei 41° 1,1 Min. Es scheint, als wenn eine weitere wesentliche Verkürzung der Lebenszeit bei noch höheren Temperaturen nicht mehr eintritt, da es natürlich eine minimale Zeit gibt, die zur Erwärmung des hineingebrachten Organismus auf die Versuchstemperatur nötig ist und die nicht unterschritten werden kann.

Damit ist derselbe Kurventypus für die deletäre Wirkung der Temperaturen festgestellt worden, der bei Konzentrationswirkungen von Salzen (sowohl bei Konzentrationserhöhung als auch bei Kon-

zentrationsverringerung) beobachtet worden ist. Für alle drei Prozesse hat also die Beziehung zwischen Lebenszeit und dem betreffenden äusseren Faktor dieselbe allgemeine Gestalt[1]).

Es erschien nun von einigem Interesse, namentlich um die Genauigkeit dieser Normalkurve zu prüfen, zu verschiedenen Zeitpunkten der Untersuchungen Testversuche für bestimmte Temperaturen anzustellen. Von vornherein sei bemerkt, dass die Zahlen, welche der Normalkurve zugrunde liegen, nicht aus einer einzigen hintereinander angestellten Versuchsreihe gewonnen wurden, sondern dass sich diese Versuche auf ein ganzes Semester erstreckten, so dass auch z. B. die Schwankungen infolge von Witterungseinflüssen usw. wenigstens in gewissem Grade in dem Zahlenmaterial zum Ausdruck kommen müssen. Wie gut trotz dieser und anderer Fehlerquellen die Reproduzierbarkeit der Versuchsdaten ist, möge folgende Tabelle 2 demonstrieren.

Tabelle 2.

Testversuche. (Modus II.)

Datum	Temp. °C.	Normalwert	Mittelwert des Testversuchs	Bemerkungen
August 1911	35	27,8	27,6	
5. Dez. 1911	35	27,8	21,04	wahrscheinlich überernährt
6. „ 1911	35	27,8	27,9	
4. Juni 1912	36	—	25,9	Normalwert interpoliert aus der Kurve 25—26
3. Juli 1912	38	17,3	22,6	
4. „ 1912	38	17,3	17,8	
5. „ 1912	38	17,3	15,9	Mittelwert 17,58
8. „ 1912	38	17,3	14,4	
9. „ 1912	38	17,3	17,2	

1) In der Arbeit von A. Dernoscheck ist aus experimentellen Gründen das Gebiet der sehr kleinen Konzentrationen und entsprechenden sehr grossen Lebenszeiten nicht ausführlich untersucht worden; wohl dagegen bei Wo. Ostwald, s. A. Dernoscheck, l. c. Es folgt aber schon aus Stetigkeitsgründen, dass die Lebenszeit nicht plötzlich vom praktisch unendlichen auf einen bestimmten endlichen Wert sinken kann, sondern dass ebenso wie eine nur wenig superoptimale Temperatur, so auch eine nur wenig supraoptimale Konzentration nur wenig auf die Lebensfähigkeit wirken werden und infolgedessen auch hier nur eine allmähliche Abnahme der Lebensdauer, d. h. eine Krümmung und nicht etwa einen Knick der Kurve, veranlassen können.

IV. Einfluss des Wasservolumens und der Anzahl der Tiere auf die Lebensdauer der höheren Temperaturen.

Bei den Untersuchungen über die Giftigkeit (Giftwirkung) sowohl von Salzen als auch von destilliertem Wasser auf Tiere ist ein merkwürdiger Einfluss sowohl der Anzahl der gleichzeitig in dem Versuchsgefäss vorhandenen Tiere, als auch des Volumens des angewandten Mediums beobachtet worden. Wegen der Literatur über diesen Punkt sei auf die Arbeit von A. Dernoscheck verwiesen. Dieser Autor selbst fand bei der Untersuchung des Einflusses des Volumens ein Maximum der Giftigkeit (Minimum der Lebensdauer) merkwürdigerweise bei mittleren Volumina, parallel nebenbei mit einem Maximum der Säureabscheidung sterbender Daphniden bei denselben Versuchen. Bezüglich des Einflusses der Anzahl der Tiere fand Dernoscheck bei einer Variation der Anzahl von 7—100 Individuen nur sehr kleine Unterschiede, die aber in sehr unregelmässiger Weise bald positiv, bald negativ waren. Den früheren Befund von Bullot, dass die Tiere in grösserer Anzahl länger lebten als in kleinerer (allerdings bei Versuchen mit destilliertem Wasser), konnte Dernoscheck bei seinen Versuchen über die Giftwirkung von Seewasser auf Daphnia nicht bestätigen.

A. Einfluss des Volumens. Folgende Tabelle 3 (S. 336) zeigt zunächst den Einfluss des Volumens auf die Lebensdauer bei 38°. (Diese Temperatur wurde besonders häufig als Testtemperatur angewandt, da ihr eine Lebensdauer von besonders genau bestimmbarem und gleichzeitig bequemem Werte von ca. ¼ Stunde entspricht.) Es wurden stets 25 Tiere zu einem Versuch verwendet; benutzt wurde Versuchsmodus II.

Aus der Tabelle 3 geht hervor, dass, trotz gelegentlicher Schwankungen, durchschnittlich doch eine deutliche Zunahme der Lebenszeit mit steigendem Volumen konstatiert werden konnte. Die Mittelwerte ergeben eine deutlich ansteigende Reihe parallel mit der Volumenzunahme, und auch innerhalb der einzelnen Versuchsreihen ist fast stets dieser Gang festzustellen. Der Zuwachs der Lebensdauer ist stärker bei den kleineren Volumina als bei den grösseren. Dies Resultat weicht also ab von demjenigen, welches Dernoscheck bei seinen Salzversuchen gefunden hat: Es ist kein Minimum der Lebensdauer bei mittlerem Volumen, sondern eine allgemein begünstigende Wirkung bei grösserer Wassermenge zu beobachten. Es erscheint nicht ausgeschlossen, dass dieser Befund

Tabelle 3.

Einfluss des Volumens auf die Lebensdauer bei 38°.
(Normale Lebensdauer 17,3 Min. Modus II.)

Versuche[1])	a) in 50 ccm Min.	b) in 100 ccm Min.	c) in 200 ccm („normal") Min.	d) in 400 ccm Min.	Temperatur des Aquariums, aus dem die Tiere genommen wurden °C.
I	11,8	15,00	21,44	21,0	ca. 20
II	17,04	15,64	18,32	21,2	ca. 17
III	11,2	17,2	19,64	19,3	ca. 17
IV	11,16	16,08	19,8	21,44	ca. 21
V	15,24	15,08	17,08	17,88	ca. 18
IV	12,04	13,76	15,45	17.0	ca. 25
Mittelwert	12,95	15,46	18,62[2])	19,64	

auch in ökologischer Hinsicht von Wert sein kann. Es würde aus ihm hervorgehen, dass die Erwärmung grösserer Wasserbecken, z. B grösserer Seen, bei gleichem Inhalt an Daphnien weniger schädlich wirken würde als die gleiche Temperaturerhöhung bei einem kleineren Wasserbecken.

B. Einfluss der Anzahl der Tiere. Bei diesen Versuchen wurde in den ersten beiden Versuchsreihen eine konstante Wassermenge von 200 ccm verwendet, in einer anderen eine solche von 100 ccm. Die Testtemperatur war 38°. Zur Untersuchung gelangten in diesem konstanten Volumen je 5, 10 und 15 Daphniden. Folgende Tabelle 4 (S. 17) enthält die Resultate.

In der zweiten Versuchsreihe der ersten Versuche gelangte eine ganz abnorme, d. h. mit grosser Wahrscheinlichkeit überfütterte (s. Abschnitt V) Daphnidenkultur zur Verwendung.

Es zeigt sich, dass bei Verwendung des „Normalvolumens" — 200 ccm — die Lebensdauer deutlich zunimmt mit der Zahl der gleichzeitig im Versuchsvolum vorhandenen Individuen. Die Steigerung ist eine so regelmässige und anschauliche, dass an der Tatsächlichkeit dieses Verhaltens nicht gezweifelt werden kann. Diese Versuchsreihe würde also den Bullotschen Befunden bei der Wirkung des destillierten Wassers ent-

1) Konstant 25 Daphniden.

2) Der etwas höhere Mittelwert erklärt sich vermutlich aus der heisseren Jahreszeit und einer geringfügigen entsprechenden Anpassung.

Tabelle 4.

Einfluss der Anzahl von Tieren auf die Lebensdauer bei konstantem Volumen. Testtemperatur 38°. (Modus II.)

	Zahl der Daphniden	Zahl der Einzel-versuche	Zahl der Tiere	Min.	Bemerkungen
			I. In 200 ccm.		
1.	je 5	3	15	**13,6**	
	je 10	3	15	**16,9**	
	je 15	3	15	**18,1**	
2.	je 5	10	50	5,9	Wirkung eines Nebenumstandes, vermutl. Überernährung; cf. Abschn. V.
	je 10	5	50	7,38	
	je 15	3	50	7,16	
			II. In 100 ccm.		
	je 5	5	25	**11,3**	
	je 15	5	75	**12,6**	

sprechen. Dass man indessen mit dieser Schlussfolgerung vorsichtig sein muss, zeigt die zweite Versuchsreihe, bei der statt des Normalvolumens nur die Hälfte — 100 ccm — verwandt wurde. Der Mittelwert ergibt zwar auch hier eine kleine Steigerung mit zunehmender Individuenzahl, doch ist der Unterschied sehr klein, und es finden sich unter den fünf Serien zwei Serien, bei denen die Variation gerade umgekehrten Charakter hat.

C. Einfluss der „Dichtigkeit". Die eben beschriebenen Experimente über den Einfluss des Volumens und der Anzahl der Tiere auf den Wärmetod legen den Versuch nahe, den Begriff der „Dichtigkeit" (Bevölkerungsdichte) zum Vergleich beider vorhergehenden Versuchsreihen heranzuziehen. Man könnte denken, dass es nur auf das Verhältnis zwischen Anzahl der Tiere und Anzahl der ihnen zur Verfügung stehenden Kubikzentimeter Wasser ankommt. Analog wie bei Dernoscheck könnte man also den Quotienten $\frac{\text{Anzahl der Tiere}}{\text{Kubikzentimeter Wasser}}$ in beiden Versuchsreihen (A und B) miteinander vergleichen. Falls tatsächlich nun diese „Dichtigkeit" für die Variationen der Lebenszeiten mit Volumen und Anzahl verantwortlich ist, so müsste gleiche Dichtigkeit in beiden Versuchsreihen gleiche Lebenszeit ergeben. Denn offenbar ist es für die Dichtigkeit gleichgültig, ob man 25 Tiere mit 50 ccm behandelt oder 50 Tiere mit 100 ccm (25 : 50 resp. 50 : 100) usw. Diese berechneten Dichtigkeiten mit den dazugehörigen Lebenszeiten sind in folgender Tabelle 5 enthalten.

Tabelle 5.

Einfluss der Dichtigkeit auf die Lebensdauer.

(„Normaldichtigkeit“: $^{25}/_{200}$ = 0,125.)

	Einfluss des Volumens		Einfluss der Anzahl der Tiere	
	Dichtigkeit	Lebensdauer	Dichtigkeit	Lebensdauer
← Abnehmende Dichtigkeit ←	$^{25}/_{50}$ = 0,5	12,96	$^{15}/_{200}$ = 0,075	18,1
	$^{25}/_{100}$ = 0,25	15,46	$^{10}/_{200}$ = 0,05	16,9
	$^{25}/_{200}$ = 0,125	18,62	$^{5}/_{200}$ = 0,025	13,6
	$^{25}/_{400}$ = 0,063	19,64	—	—
	—	—	$^{15}/_{100}$ = 0,15	12,6
	—	—	$^{5}/_{100}$ = 0,05	11,3

Die Tabelle 5 zeigt, dass nicht daran zu denken ist, die Dichtigkeit für den Einfluss von Volumen und Anzahl der Tiere verantwortlich zu machen. Von Übereinstimmung in den absoluten Werten der Lebenszeit bei gleicher Dichtigkeit ist nicht die Rede; ja nicht einmal der Gang der Lebenszeiten mit der Dichtigkeit ist in beiden Versuchen derselbe. Während bei variierendem Volumen und konstanter Tierzahl die Lebenszeiten deutlich zunehmen mit abnehmender Dichtigkeit (linke Spalte der Tab. 5), nehmen umgekehrt bei variierender Tierzahl und konstantem Volumen die Lebenszeiten ab mit abnehmender Dichtigkeit, und zwar in beiden Versuchsreihen (rechte Spalte der Tab. 5). Dernoscheck fand bei seinen Versuchen bei mittleren Dichtigkeiten in beiden Spalten ein Minimum der Lebenszeiten, aber ebenfalls keine Übereinstimmung der absoluten Lebenszeiten für gleiche Dichtigkeiten. Es muss weiteren eingehenderen Untersuchungen überlassen werden, diesen rätselhaften Einfluss aufzuklären. Es ist nicht unmöglich, dass neben dem Volumen auch die Gestalt des Versuchsgefässes, z. B. die Grösse seiner Oberfläche und damit die Grösse der Diffusionsfläche der gelösten Gase usw., von Einfluss ist.

V. Einfluss der Ernährung.

A. Allgemeines. Schon der blosse Augenschein lehrte, dass der Ernährungszustand der Tiere unter Umständen von erheblichem Einfluss auf die Lebensdauer bei bestimmten Temperaturen sein konnte. In der Regel wurden die Versuchstiere, wie bereits oben beschrieben, in normalen, mit Wasserpflanzen bestandenen Aquarien

gehalten, deren Pflanzendetritus in bekannter Weise als Nahrung diente. Eine solche Ernährung, bei der also beispielsweise nicht besonders einzellige Algen als Futter verabreicht wurden, ist bei den vorliegenden Versuchen als normale bezeichnet worden. Obige Normalkurve ist z. B. an derartig gehaltenen Tieren gewonnen worden. Gelegentlich fanden sich aber auch schon bei diesen Versuchen Kulturen, die eine abnorm grosse oder insbesondere auch eine abnorm kleine Widerstandsfähigkeit besassen. In folgender Tabelle 6 ist ein derartiges Beispiel angeführt. Es wurde nun näher auf diesen Punkt geachtet und in der Tat ein ganz beträchtlicher Einfluss der Ernährung festgestellt. Es zeigte sich, dass die Resistenzfähigkeit der Daphniden wesentlich zunahm, falls die Tiere vorher gehungert hatten, sowie sehr wesentlich unter den Normalwert sank, falls in den Aquarien, aus denen die Versuchstiere entnommen wurden, sehr reichlich Detritus vorhanden war. Tabelle 6 zeigt die Grösse dieses Einflusses. Es handelt sich hier um relativ unbestimmte Vermehrung der Nahrungsstoffe insofern, als bei den „sehr gut gefütterten“ Daphniden die Nahrungsvermehrung nur durch Einführung einer reichlichen Menge von Detritus, Schlamm usw. bewerkstelligt wurde. Genauere Versuche siehe weiter unten.

Tabelle 6.

Einfluss der Fütterung auf die Lebensdauer. (Modus II.)

Datum		Daphniden	Gefundener Wert
	I. Testtemperatur 35°; Normalwert 27,8 Min.		
August 1911	„Hungerstadium“	30	45,3
„ 1911	„	12	44,1
11. Dezember 1911	„ (?)	25	42,6
	II. Testtemperatur 37°; Normalwert 24,08 Min.		
26. Januar 1912	„sehr gut gefüttert“	15	20,7
26. „ 1912	„weniger gefüttert“	15	26,5
	III. Testtemperatur 38°; Normalwert 17,3 Min.		
14. Februar 1912	„gut gefüttert“	25	10,64

Es zeigt sich, dass hungernde Tiere ausserordentlich, bis zu 50% und mehr, lebensfähiger sind als normalgefütterte, während umgekehrt gutgefütterte Daphniden weniger resistenzfähig sind.

B. Algenfütterung. Sodann wurde der Einfluss reichlicher Fütterung von Algen[1]), die mir aus dem botanischen Institut der Universität überlassen wurden, untersucht. Es wurde ein Überschuss des Materials zugesetzt, so dass das Wasser des Aquariums intensiv grün gefärbt war. Nachfolgende Tabelle 7 zeigt die Resultate.

Tabelle 7.

Einfluss der Algenfütterung auf die Lebensdauer.

Testtemperatur 38°; Normalwert 17,3 Min. (Modus II; je 25 Daphniden.)

Datum	Dauer der Fütterung	Gefundener Wert
13. Juni 1912	3 Tage	8,88 Min.
14. „ 1912	4 „	9,28 „
18. „ 1912	8 „	10,56 „

Nach dreitägiger Fütterung mit diesem Material ist die Lebensdauer, verglichen mit der Normalkurve, auf die Hälfte gesunken; interessanterweise findet aber allmählich eine Gewöhnung der Daphniden an eine überreiche Nahrung insofern statt, als die Lebenszeit bei längerem Aufenthalt deutlich wieder ansteigt: nach 4 Tagen ist sie von 8,8 auf 9,48 Minuten gestiegen, nach einer Woche schon auf 10,56 Minuten. Es scheint also, als wenn die physiologischen Schädigungen des „Überfressens", wie sie sich in einer grösseren Temperaturempfindlichkeit zeigen, bei längerer und konstanter Zufuhr überreichlicher Nahrung wieder überwunden werden.

C. Blutfütterung. Es ist ein bekanntes Mittel, Daphnienkulturen zu besonders gutem Gedeihen und besonders guter Fortpflanzung zu bringen, falls man den Kulturen Blut zusetzt. Ich verwandte zu meinen Versuchen Rinderblut. Die Resultate sind in nachstehender Tabelle 8 (S. 21) enthalten.

Bei dem ersten Versuch (vom 22. Januar 1912) geschah der Blutzusatz sehr vorsichtig, so dass das Wasser kaum merklich gefärbt wurde. Wie der Vergleich der Zahlen lehrt (normal = 24,08, mit Blutfütterung = 24,04), haben derartig kleine Blutzusätze keine merkliche Wirkung. Ganz anders verhält es sich bei grösseren Zusätzen, bei denen z. B. das Aquarienwasser ausgesprochen rot gefärbt

1) Eine nicht näher bestimmte kleine Protococcacee.

Tabelle 8.

Einfluss der Blutfütterung auf die Lebensdauer.

Testtemperatur 38°; Normalwert 17,3 Min. (Modus II; je 25 Daphniden.)

Datum	Dauer der Fütterung	Gefundener Wert
13. Juni 1912	3 Tage	4,0 Min.
14. „ 1912	4 „	5,4 „
18. „ 1912	8 „	4,5 „
22. Januar 1912 (37°)	WenigeTage schwache Blutfütterung	24,04 Min. (normal: 24,08)

ist. Hier sinkt die Lebenszeit in ganz abnormer Weise auf zirka ein Viertel herunter. Eine wesentliche Erholung resp. Anpassung an die veränderten Nahrungsverhältnisse und ein entsprechendes Wiederaufsteigen der Resistenzfähigkeit konnte hier nicht wahrgenommen werden. Allerdings durften die Versuche auch nicht zu lange ausgedehnt werden, um nicht durch ein Überwuchern von Bakterien die Eindeutigkeit zu stören; es wäre ja möglich, dass durch die Fäulnis bei längerer Versuchsdauer eine neue schädigende Wirkung auf die Versuchstiere einträte.

D. Gemischte Versuche. Schliesslich wurde auch ein Gemisch von Blut und Algen zur Überernährung verwandt. Auch hier ergab sich eine Schwächung der Tiere resp. ein Herabgehen der Lebenszeit. Nimmt man den Durchschnitt der Lebenszeit bei 38° einmal bei Algenfütterung, sodann bei Blutfütterung und schliesslich bei gemischter Fütterung, so erhält man in der angegebenen Reihenfolgende drei Zahlen: 9,6 — 4,6 — 7,28. Es ergibt sich also bemerkenswerterweise, dass der Einfluss von gemischter Überernährung in der Tat auch zahlenmässig in der Mitte steht zwischen den Einflüssen der genannten Einzelarten der Überernährung.

Es folgt aus diesen Versuchen, dass unter den physiologischen Variationen eines derartigen Versuchsmaterials der Ernährungszustand eine wichtige Rolle spielt und stets möglichst berücksichtigt werden muss.

VI. Anpassungserscheinungen.

A. Orientierende Versuche. Dass es überhaupt gelingt, Daphnien durch eine langsame thermische Vorbehandlung resistenter gegen hohe Temperaturen zu machen, ist aus der bisherigen Literatur

noch nicht zu entnehmen. A. Weismann (Literaturangabe siehe Einleitung) fand bei einer thermischen Vorbehandlung von 1½ bis 6 Stunden bei verschiedenen Daphniden keinen merklichen Unterschied im Sinne eines Anpassungseffektes, vielmehr stets nur das Gegenteil: eine Herabsetzung der Resistenzfähigkeit. Es ist dies die weiter unten näher zu beschreibende sogenannte „negative Phase“. Es erschien daher von Interesse, zunächst einmal mehr orientierende Versuche darüber anzustellen, ob Daphnia magna überhaupt imstande ist, sich in messbarer Weise durch thermische Vorbehandlung an höhere Temperaturen anzupassen.

Es wurden dann zu diesem Zweck Daphnienkulturen in Aquarien gehalten, die völlig gleich beschaffen waren mit den Kulturgefässen „normaler“ Zuchten, mit dem einzigen Unterschied, dass diese Aquarien durch eine kleine Gasflamme auf einer erhöhten Temperatur gehalten wurden. Ein Thermoregulator wurde bei diesen vorläufigen und orientierenden Versuchen noch nicht angewendet (s. weiter unten). Natürlich variierte je nach der Tageszeit bei dieser vorläufigen Versuchsanordnung die Temperatur erheblich, jedoch immer so, dass die durchschnittliche Temperatur wesentlich höher lag als die Zimmertemperatur. Die durchschnittliche Temperatur betrug ca. 30° gegenüber einer Zimmertemperatur von 17—18°. Bei ca. 30° halten sich Daphniden unter den genannten Umständen ohne merkliche Schädigung mindestens 2 Wochen. Diese orientierenden Versuche sind in Tabelle 9 zusammengestellt.

Tabelle 9.

Vorläufiger Anpassungsversuch. Tiere bis ca. 30° gehalten. (Modus II.)

Testtemperatur °C.	Normalwert	1. Tag	2. Tag	3. Tag	4. Tag	5. Tag	6. Tag	7. Tag	8. Tag
35,0	27,8	41,9	54,1	—	—	—	—	—	—
38,0	17,3	—	—	—	32,8	34,6	—	36,4	—
40,0	3,5	—	9,0	—	—	2,5	—	7,8	—
41,5	1,1—x	—	—	—	—	—	—	1,75	—

Testtemp. °C.	Normalwert	9. Tag	10. Tag	11. Tag	12. Tag	13. Tag	14. Tag	15. Tag	16. Tag	17. Tag
35,0	27,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—
38,0	17,3	20,9	—	25,3	—	14,9	—	14,4	—	25,6
40,0	3,5	6,6	—	4,2	—	6,0	—	3,36	—	7,24
41,5	1,1—x	—	—	—	—	—	—	—	—	1,33

Trotz der Unvollkommenheit obiger Versuchsanordnung zeigen bereits diese Versuche eine Reihe interessanter Einzelheiten.

Zunächst geht hervor, dass unter den genannten Versuchsbedingungen die thermische Vorbehandlung in der Tat im Sinne einer Anpassung, d. h. einer Resistenzvermehrung gegen höhere Temperaturen wirkt. In der Tabelle 9 sind, wie ersichtlich, Testversuche bei verschiedenen Temperaturen des kritischen Gebietes vorgenommen worden. Es zeigt sich, dass im allgemeinen die Unterschiede zwischen thermisch vorbehandelten und normalen Tieren um so grösser sind, je niedriger die angewandte Temperatur ist. Im Durchschnitt ist die Resistenzfähigkeit bei 35° fast auf das Doppelte vermehrt; ähnlich hoch sind auch die Steigerungen bei 38° und 40°. Es ist somit sichergestellt, dass auch Daphniden durch thermische Vorbehandlung mit nicht deletären Temperaturen experimentell an höhere Temperaturen angepasst werden können, im Gegensatz zu der gegenteiligen Meinung von A. Weismann.

Auf weitere Einzelheiten, z. B. über den zeitlichen Verlauf der Anpassungserscheinungen, sei hier nicht näher eingegangen, da in Anbetracht der unvollkommenen Versuchsanordnung die Resultate mit grosser Unregelmässigkeit behaftet sind.

B. Allgemeines über die Methodik der quantitativen Anpassungsversuche. Um ein genaueres, möglichst quantitatives Bild von den Änderungen zu erfahren, welche eine thermische Vorbehandlung in bezug auf die Widerstandsfähigkeit gegen hohe Temperaturen hervorruft, wurde folgendes Verfahren eingeschlagen.

Zunächst wurde in methodischer Beziehung für eine wirklich konstante Vorbehandlungstemperatur gesorgt, indem die betreffenden Aquarien mit Quecksilberthermoregulatoren versehen und die Temperatur auf diese Weise mindestens innerhalb eines Grades konstant gehalten wurde. Alle in folgendem beschriebenen Versuche sind mit diesem Thermostaten angestellt worden. Als Vorbehandlungstemperatur wurden 30° gewählt; es ist dies eine Temperatur, bei der, wie erwähnt, Daphnien 2 Wochen und mehr ohne merkliche Schädigung existieren können. Man könnte daran denken, auch andere, z. B. niedrigere Vorbehandlungstemperaturen anzuwenden. Die vorliegende Untersuchung ist zunächst auf diese eine Vorbehandlungstemperatur beschränkt worden, da, wie sich zeigte, schon

bei dieser einen Versuchsanordnung die Anzahl der anzustellenden Einzelexperimente sehr erheblich und zeitraubend ist. Es ist anzunehmen, dass bei einer Vorbehandlung mit wesentlich höheren Temperaturen als 30°, analog wie bei den Versuchen von A. Weismann, eher eine Schädigung als eine Anpassung eintreten wird sowie weiterhin, dass bei zu niedrigen Vorbehandlungstemperaturen gar kein merklicher Effekt erkennbar wird. 30° erschienen im Sinne dieser Überlegung als eine mittlere Temperatur, bei der besonders günstige Resultate zu erwarten waren.

Die vorzubehandelnden Tiere wurden in ein Extragefäss gebracht, das mit Sand, Wasserpflanzen, möglichst konstanter Nahrung usw. versehen war und das erst seinerseits in das grosse thermoregulierte Aquarium auf einer Glas- und Drahtbrücke hineingestellt wurde. Bei allen in folgendem beschriebenen Versuchen wurde dasselbe Versuchsgefäss verwendet, sowie auch weiter grösstmöglichste Konstanz aller Versuchsbedingungen angestrebt (Wasservolumen usw.).

Die eigentlichen Anpassungsversuche bestanden nun in folgendem: Nachdem die Tiere zu bekannter Zeit in das Thermoaquarium hineingebracht worden waren, wurden nach bestimmten Zeitintervallen jeweils eine gleiche Anzahl Individuen — fast immer 25 Stück — herausgenommen und ihre Resistenzfähigkeit gegen eine konstante deletäre Temperatur geprüft. Als solche Testtemperatur wurden 38° gewählt, deren Normalzeit nach den oben beschriebenen vielfältigen Versuchen sich auf 17,3 Minuten beläuft. Diese Prüfung geschah nach Modus II (s. oben). War nun eine Schwächung durch die Vorbehandlung eingetreten, so musste sich dieses in einer Herabsetzung der Normalzeit bei 38° äussern; war dagegen eine Anpassung eingetreten, so musste die Lebenszeit bei 38° höher als normal betragen. Die negative oder positive Differenz der beobachteten Lebenszeit zu der Normalzeit ergab also ein quantitatives Maass entweder für eine Schädigung oder aber für eine Anpassung durch die thermische Vorbehandlung. Es sei bemerkt, dass auch diese Methodik analog derjenigen ist, welche A. Dernoscheck bei seinen Anpassungsversuchen über Salzwirkungen angewandt hat.

C. Charakter der Anpassungsfunktion (Tageskurve). Zunächst wurden als Zeitintervalle zur Feststellung einer positiven oder negativen Anpassung Tage gewählt. Es wurden, mit anderen Worten, nach verschiedenen Tagen Testversuche an den mit 30° vorbehandelten Tieren bei 38° angestellt. Die Resultate sind enthalten in folgender Tabelle 10 und in Fig. 3 graphisch dargestellt.

Tabelle 10.

Daphniden bei genau 30° gehalten. Testtemperatur 38°; Normalwert = 17,3. (Modus II.)

Datum		0 Tag	1 Tag	2 Tage	3 Tage	4 Tage	5 Tage	6 Tage	7 Tage	8 Tage	9 Tage
I.											
23. Jan. 1912	1	—	26,8	30,4	—	—	—	—	—	—	—
25. „ 1912	2	—	19,7	23,8	32,6	—	—	—	—	—	—
28. „ 1912	3	—	23,4	25,6	27,7	30,7	—	—	—	—	—
5. Juni 1912	4	—	22,36	25,7	30,6	39,04	—	—	—	—	—
22. „ 1912	5	—	—	—	—	35,18	—	—	—	38	—
Mittel	1—5	—	**23,05**	**26,4**	**30,3**	**34,9**	—	—	—	**(38)**	—
II.											
24. Juli 1912	6	20,76	33,24	—	38,0	—	39,88	—	50,2	—	—
7. Aug. 1912	7	18,24	—	—	—	—	40,32	—	38,64	—	40,24
Mittel	6—7	**19,5**	**(33,2)**	—	**(38,0)**	—	**40,1**	—	**44,4**	—	**(40,2)**

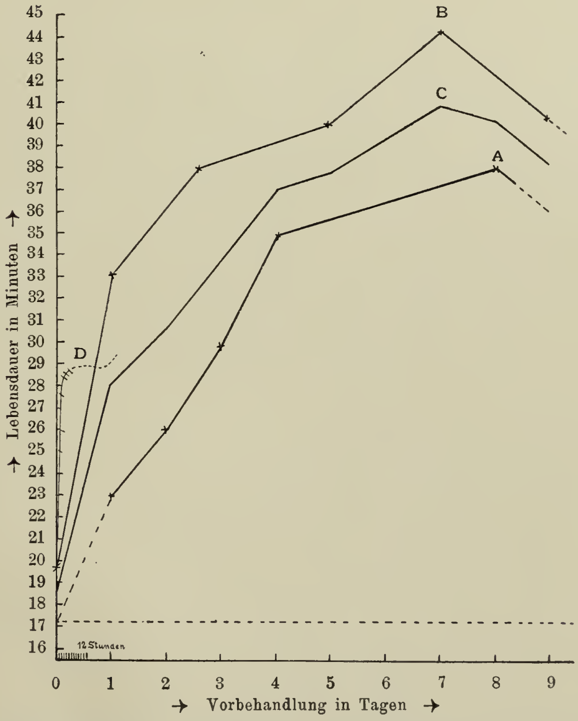


Fig. 3. Tagesanpassung. *A* Mittel der I. Versuchsreihe. *B* Mittel der II. Versuchsreihe. *C* Mittel aller Versuche (z. T. interpoliert). *D* Stundenkurve, vgl. Fig. 4.

Die Tabelle 10 und die Fig. 3 lehren zunächst, dass durch Vorbehandlung mit 30° Daphniden in der Tat eine sehr beträchtliche

positive Anpassung durchmachen. Die Lebensdauer bei 38° steigt im günstigsten Falle (unter den vorliegenden Versuchen) von 17,3° bis auf 50,2°, d. h. auf fast das Dreifache der Normalzeit; im Mittel von allen Versuchen wird die Lebenszeit immerhin noch mehr als verdoppelt. Im einzelnen ergibt sich, dass die Anpassung stetig zunimmt mit der Dauer der Vorbehandlung. Dabei ist allerdings der günstige Effekt der ersten Tage der Vorbehandlung wesentlich grösser als der der späteren Tage. Die Kurve, welche das Wachsen der Resistenzfähigkeit mit der Dauer der Vorbehandlung wiedergibt, steigt stetig an, ist aber zur Abszisse (der Vorbehandlungszeit) konkav; ihr Anstieg ist, mit anderen Worten, in den ersten Tagen schneller als bei längerer thermischer Vorbehandlung. In der Tat wird bei einem Aufenthalt von ca. 1 Woche bei 30° praktisch das Maximum erreicht in bezug auf Anpassung. Die Kurve wird immer flacher, d. h. längere Vorbehandlung hat hier keine merklich begünstigende Wirkung mehr. Bei noch längerer Versuchsdauer scheint sogar wieder eine kleine Abnahme der Anpassung einzutreten.

In Anbetracht der grossen Versuchsfehler solcher sich auf 1 Woche und mehr erstreckender Versuchsserien müssten die gefundenen Kurven als sehr regelmässig bezeichnet werden.

Was das wieder etwas ungünstigere Verhalten bei längerer Vorbehandlungszeit anbetrifft, so konnten hier genauere Daten einstweilen noch nicht erhalten werden, da die Kulturen bei dem grossen Verbrauch von 25 Individuen für jeden Versuch meistens schon innerhalb der angegebenen Zeit verbraucht worden waren. Noch mehr Individuen von vornherein auszusetzen, erwies sich bei den gegebenen Versuchsbedingungen als unmöglich oder unzweckmässig, da in derartig dicht bevölkerten Kulturen zweifellos eine gegenseitige Schädigung der Daphniden eintritt.

D. Versuche über die Anfangsstadien der Anpassung (Stundenkurven). Bei den Dernoscheck'schen Versuchen mit Seewasser ist in den ersten Tagen resp. Stunden eine „negative Phase“ beobachtet worden, d. h. eine anfängliche Schädigung der Daphniden gefunden worden. Die bisher beschriebenen Versuche zeigen nichts von dieser Erscheinung. Zwar wurden bei den in Abschnitt A beschriebenen orientierenden Anpassungsversuchen gelegentlich kleinere Lebenszeiten bei Testversuchen gefunden, doch waren diese Resultate so variabel, dass bei den erwähnten nur vorläufigen Versuchsbedingungen kein Gewicht auf die-

selben gelegt werden konnte. Es erschien unter anderem aus diesem Grunde interessant, auch über die Anpassungsvorgänge innerhalb der ersten Stunden etwas zu erfahren, insbesondere nachzusehen, ob, ähnlich wie bei den Dernoscheck'schen Versuchen, vielleicht hier eine negative Phase zu beobachten war.

Die Versuchsanordnung war genau dieselbe wie bei den Tagesversuchen; nur wurden hier die Tiere bereits nach Stunden herausgenommen und ebenfalls bei 38 ° auf ihre Resistenzfähigkeit geprüft. Die Resultate sind in folgender Tabelle 11 und Kurve (Fig. 4) enthalten.

Tabelle 11.

Stundenanpassung. Daphniden bei genau 30 ° gehalten. Testtemperatur 38 °; (Normalwert = 17,3.) (Modus II.)

Datum		0 Stde.	1 Stde.	2 Stdn.	3 Stdn.	4 Stdn.	5 Stdn.	6 Stdn.	7 Stdn.
I.									
3. Juli 1912	1	22,6	21,7	19,93	21,8	20,66	22,73	21,6	--
4. „ 1912	2	17,8	24,13	26,4	23,26	25,26	26,2	20,9	—
5. „ 1912	3	15,9	26,0	26,33	25,46	26,13	28,13	29,33	—
8. „ 1912	4	14,4	22,6	23,7	27,4	27,7	27,3	27,0	—
9. „ 1912	5	17,2	24,3	21,4	28,0	26,7	29,0	26,0	—
Mittel	1—5	17,58	23,75	23,55	25,18	25,29	26,67	24,97	—
II.									
25. Juli 1912	6	21,66	24,0	24,0	24,84	25,28	24,48	26,36	25,56
26. „ 1912	7	22,24	27,12	28,24	30,32	33,16	32,48	32,92	31,56
27. „ 1912	8	22,48	27,8	32,36	35,0	36,6	34,4	37,64	37,48
Mittel	6—8	22,13	26,31	28,2	30,05	31,68	30,45	32,31	31,5
Mittel	1—8	19,85	25,03	25,87	27,61	28,48	28,56	28,64	(31,5)

Tabelle 11 und Fig. 4 zeigen, dass bei den gewählten Versuchsbedingungen keine negative Phase oder eine Schädigung in dem ersten Stadium der Vorbehandlung eintritt. Sofort nach den ersten Stunden tritt eine Erhöhung der Resistenzfähigkeit ein und setzt sich stetig fort innerhalb der gemessenen 6 resp. 7 Stunden. In Fig. 4, welche die Resultate graphisch darstellt, verlaufen ebenfalls die Kurven innerhalb der Fehlergrenzen ganz regelmässig. Reduziert man den in Fig. 4 stark vergrösserten Maassstab auf den Maassstab der Tagesanpassungskurve (Fig. 3), so findet man, wie Kurve *D* in Fig. 3 zeigt, einen vortrefflichen Anschluss an die Tageskurve. Der nach 6 resp. 7 Stunden erreichte Anpassungswert (28,64 resp. 31,5 Minuten) liegt recht nahe der Kurve *B* (Fig. 3).

Nun wäre es ja immerhin möglich, dass innerhalb der ersten Minuten tatsächlich doch eine negative Phase auftritt. Dies ist indessen bei dem vorliegenden Material und den gewählten Versuchsbedingungen nicht oder kaum mehr zu entscheiden. Denn die Testversuche dauerten ja selbst über 1/4 Stunde, und da bereits nach 1 Stunde eine ausgesprochene positive Anpassung auftritt, so kann auch aus diesem Grunde eine negative Phase nur minimal sein.

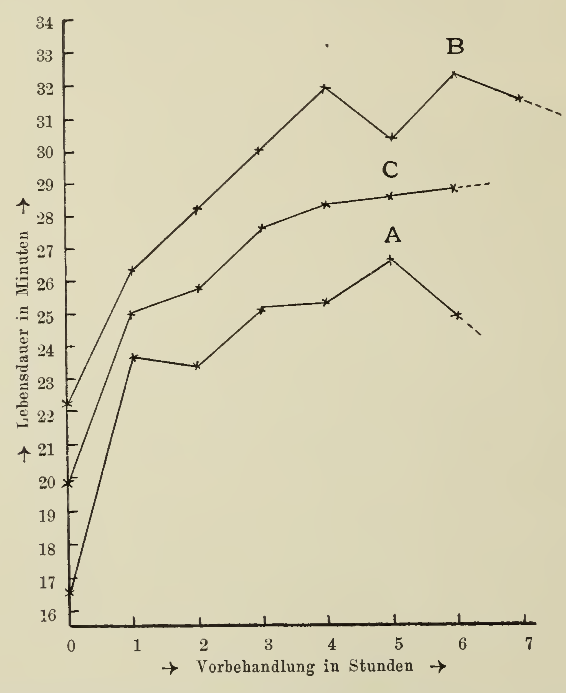


Fig. 4. Stundenanpassung. *A* Mittel der Versuche 1—5. *B* Mittel der Versuche 6—8. *C* Mittel aller Versuche.

Allerdings darf man nun nicht folgern, dass bei der Temperaturanpassung unter keinen Umständen eine negative Phase auftritt. Wie schon oben angedeutet wurde, wird das Auftreten einer negativen Phase stark abhängig sein von der Höhe der Vorbehandlungstemperatur.

Analogerweise hat ja auch A. Dernoscheck (l. c.) gefunden, dass die negative Phase stark zunimmt, je stärker von vornherein die Kulturkonzentration war. Wären die Daphniden statt mit 30° z. B. mit 32° oder noch höheren Temperaturen vorbehandelt worden,

so wäre auch hier das Auftreten einer negativen Phase eventuell zu erwarten gewesen. Diese Vermutung sicherzustellen muss weiteren Versuchen überlassen bleiben.

An dieser Stelle sei eine Versuchsreihe angegeben, die mit jungen, nicht voll ausgewachsenen Daphniden angestellt wurde. Diese waren teils zugleich mit den normalen (ausgewachsenen) Versuchstieren in das Thermoaquarium gelangt, teils waren sie dort geboren und herangewachsen. Nach zwei- bis dreiwöchigem Aufenthalt in 30° wurde die Resistenzfähigkeit dieses jugendlichen Materials gegen höhere deletäre Testtemperaturen geprüft (je 25 Daphniden nach Modus II; 6.—9. Februar 1912). Das Resultat, welches eine starke Anpassung bedeutet, ist aus folgender Tabelle 12 ersichtlich:

Tabelle 12.

	Testtemperatur			
	38°	39°	39,5°	40°
Normalwert	17,3	8,6	5,5	3,5
Gefundener Wert. . . .	44,8	20,3	9,8	5,1

E. Schlussbemerkungen. Soweit sich die bisherigen Untersuchungen anderer Forscher über Temperaturanpassung mit den vorliegenden vergleichen lassen, besteht eine Übereinstimmung der Resultate. Freilich kann ein solcher Vergleich nur ein oberflächlicher sein, da, wie erwähnt, kaum eine der bisherigen Untersuchungen quantitativ in dem Sinne abgefasst worden ist, wie er hier verwendet wurde. Eine ausführliche Darlegung der Parallelen qualitativer Resultate anderer Forscher würde für den vorliegenden Zweck, mit anderen Worten, kaum etwas Neues ergeben und soll aus diesem Grunde unterbleiben.

Die vorliegenden quantitativen Versuche sind insbesondere im Hinblick darauf unternommen worden, zuverlässiges Material für die physiologische Theorie der thermischen Anpassungserscheinung zu liefern. Was nun diese Theorie anbetrifft, so möchte ich es hier nicht wagen, auf die einzelnen sich anbietenden theoretischen Erklärungsmöglichkeiten schon jetzt näher einzugehen. Von den Möglichkeiten, die hier in Frage kommen, seien insbesondere drei erwähnt: Die erste, speziell von C. B. Davenport und

W. E. Castle[1]) hervorgehobene beruht in der Analogisierung des Temperaturtodes mit der Koagulation der Biokolloide, speziell der Eiweisskörper. Von J. Loeb und H. Wasteneys[2]) sind zwei weitere Möglichkeiten erwähnt worden. Die eine vergleicht den Temperaturtod mit der mechanischen Wirkung plötzlicher Temperaturerhöhung auf ein Glasgefäss[3]) und den Anpassungsvorgang mit dem allmählichen Ausgleich der Spannung des Glases bei allmählicher Erwärmung. Drittens sprechen J. Loeb und H. Wasteneys davon, dass unter dem Einfluss der thermischen Vorbehandlung ein Stoff gebildet wird, welcher die Tiere gegen die deletären Wirkungen höherer Temperaturen schützt. Ohne einer künftigen Entscheidung vorgreifen zu wollen, erscheint die erste Erklärungsmöglichkeit, welche auf das analoge Verhalten von Kolloiden beim Erhitzen hinweist, als die naheliegendste, insbesondere dann, wenn man beachtet, dass als Kriterium des Todes in vorliegenden Untersuchungen, wie meist, das Aufhören von Muskelbewegung gewählt wurde. Es ist tatsächlich bekannt[4]), dass die „Koagulationstemperatur" von Eiweiss eine sehr variable Grösse ist, die sich je nach der Erwärmungsgeschwindigkeit und nach anderen Versuchsbedingungen beträchtlich verschieben kann. Wegen Einzelheiten sei insbesondere auf die neueren Arbeiten von Harriette Chick und C. J. Martin verwiesen, in denen sich auch die ältere Literatur über diesen Gegenstand verzeichnet findet[5]).

VII. Zusammenfassung.

Die wichtigsten experimentellen Ergebnisse vorliegender Arbeit sind folgende:

1. Es wurde mit möglichst quantitativer Methodik die Lebensdauer von Daphnia magna bei höheren Temperaturen (zwischen 35 und 40°) gemessen. Die Lebenszeiten variieren innerhalb dieses

---

1) C. B. Davenport and W. E. Castle, On the acclimatization of organisms to high temperatures. Arch. f. Entwicklungsmech. Bd. 2. 1895.

2) J. Loeb and H. Wasteneys, On the adoption of Fish (Fundulus) to higher Temperatures. Journ. of Exper. Zool. vol. 12 no. 4.

3) Speziell auf ein schlecht gekühltes.

4) S. u. a. O. v. Fürth, Vergleichende chemische Physiologie der niederen Tiere S. 424 usw.

5) Harriette Chick and C. J. Martin, On the heat Coagulation of proteins. Journ. of Physiol. vol. 40 no. 5, vol. 43 no. 1, vol. 45 no. 1, 2 a. 4.

Temperaturgebietes von 37,8 Min. bis 1,1 Min., und zwar ist die Beziehung zwischen Lebenszeit und Temperatur eine durchaus regelmässige. Die entsprechende Kurve hat S-förmige Gestalt.

2. Die bei einer ausgewählten Temperatur (38°) gemessene Lebenszeit nimmt zu, falls das Wasservolumen konstant gehalten und die Anzahl der Tiere vermehrt wird. Hält man umgekehrt die Anzahl der Tiere konstant und variiert das Volumen, so steigert sich mit Zunahme des Volumens auch die Lebensdauer. Dagegen lassen sich beiderlei Einflüsse nicht vereinigen, falls man den Begriff „Dichtigkeit", d. h. den Quotienten $\frac{\text{Anzahl der Tiere}}{\text{Volumen}}$ einführt. Hierfür sind vermutlich sekundäre Faktoren, wie die Grösse der freien Oberfläche des Wassers usw., verantwortlich zu machen.

3. Es ergab sich ein wichtiger Einfluss der Ernährung auf die Lebenszeit insofern, als die Resistenzfähigkeit stark herabgesetzt wird bei guter und reichlicher Ernährung (Algen- und Blutfütterung). Die Lebenszeit sank im extremen Falle von normal 17,3 Min. (bei 38°) auf 4 Min. (Blutfütterung) herab.

4. Es wurden systematische Anpassungsversuche angestellt bei einer Vorbehandlungstemperatur von 30°. Es ergab sich schon von der ersten Stunde der Vorbehandlung an ein deutlicher Anpassungseffekt, d. h. eine Steigerung der Lebensdauer bei höherer Temperatur (38°), die unter Umständen ca. das Dreifache, im Mittel das Doppelte der normalen Lebensdauer betrug. Die Kurven, welche den Grad der Anpassung (die Erhöhung der Lebensdauer) mit der Dauer der thermischen Vorbehandlung ausdrücken, verlaufen innerhalb der Fehlerquellen durchaus regelmässig und haben eine gegen die Abszisse (Dauer der Vorbehandlung) konkav gekrümmte Gestalt. Es haben, mit anderen Worten, die ersten Stunden und Tage der Vorbehandlung einen grösseren Einfluss auf die Anpassung als die späteren Zeiten, etwa die Vorbehandlung von mehr als einer Woche.

5. Eingehende Versuche über die ersten Anpassungsstadien innerhalb der ersten 6 resp. 7 Stunden der thermischen Vorbehandlung ergaben stets eine deutliche positive Anpassung. Eine sogenannte „negative Phase", wie sie bei anderen Anpassungserscheinungen, z. B. bei der Anpassung von Süsswassertieren an Seewasser (A. Dernoscheck), beobachtet worden ist, konnte bei der gewählten Vorbehandlungstemperatur nicht festgestellt werden.

Es wird aber darauf hingewiesen, dass z. B. bei höheren Vorbehandlungstemperaturen negative Phasen auch bei der Temperaturanpassung möglich sind.

Es sei mir gestattet, Herrn Geheimrat Prof. Dr. Chun für die wohlwollende Teilnahme am Fortgange meiner Studien zu danken. Besonderen Dank schulde ich Herrn Dr. Wo. Ostwald, der mir die Anregung zur vorliegenden Arbeit gegeben und das Gelingen derselben durch wertvolle Angaben unterstützt hat.

Lebenslauf.

Verfasser vorliegender Arbeit, Nikolai Heinrich v. Transehe, wurde geboren am 19. (31.) Juli 1886 in Neu-Wrangelshof bei Wolmar (Livland) als Sohn des Erbherrn Nikolai v. Transehe. Nach genossenem häuslichen Unterricht trat er 1901 in die Quarta des humanistischen Stadt-Gymnasiums zu Riga ein, welches er 1906 mit dem Reifezeugnis verließ. Im selben Jahre bezog er die Universität Dorpat, wo er sich dem Studium der Zoologie und der Botanik widmete. Nach bestandenen Kursusexamina in der allgemeinen Zoologie (Prof. Dr. I. v. Kennel) und in der allgemeinen Botanik (Prof. N. J. Kusnezow), begleitete er 1908 den Baron Loudon-Lisden auf einer ornithologischen Sammelreise nach der Talyschebene (Süd-Ost-Kaukasus) und dem West-Turkestan. — 1909 verließ Verfasser Dorpat, um seine Studien in Leipzig fortzusetzen. Hier besuchte er die Vorlesungen bzw. Praktika der Herren: Buder, Chun, Credner, Felix, Hempelmann, Miehe, Nathansohn, Wo. Ostwald, Partsch, Pfeffer, Reinisch, Simroth, Steche, Stille, zur-Strassen, Woltereck.

Nikolai Heinrich v. Transehe ist evangelisch-lutherischer Konfession.



Altenburg
Pierersche Hofbuchdruckerei
Stephan Geibel & Co.